



Attenzione: le informazioni riportate hanno solo un fine illustrativo
e non sono riferibili né a prescrizioni né a consigli medici

Sommario

⇒ Oncologia

- Studio dell'impatto della variabilità genetica individuale sulla correlazione tra l'uso di acido acetilsalicilico e FANS ed il rischio di insorgenza di cancro al colon-retto
- L'instabilità dei microsatelliti e le mutazioni di BRAF e KRAS sono fattori predittivi per il tumore del colon disseminato
- Un primo passo verso la medicina personalizzata nell'osteosarcoma: farmacogenetica come marker predittivo dell'*outcome* dopo chemioterapia
- La variante rs16754 del gene del tumore di Wilms 1 (WT1) predice un esito clinico favorevole per i pazienti affetti da Leucemia Mieloide Acuta della popolazione della Cina del Sud

⇒ Immunomodulazione

- Le variazioni di espressione degli mRNA precedono i cambiamenti di espressione dei miRNA nella pelle lesionata colpita da psoriasi durante il trattamento con adalimumab

⇒ Infettivologia

- Varianti nel gene CYP4502B6 sono associate ai livelli plasmatici di nevirapina e alla risposta clinica in donne keniane HIV-1 positive: uno studio di coorte prospettico

⇒ Cardiovascolare

- Effetti della variazione a singolo nucleotide c.428G>A della carbossilesterasi 1 sulla farmacocinetica di quinapril ed enalapril

⇒ Neurologia

- Polimorfismi del gene trasportatore della serotonina di tipo 1 modificano la risposta al trattamento nella malattia di Parkinson
- Associazione di varianti genotipiche e allotipiche del gene DRD2 con il miglioramento dei sintomi negativi dopo 6 settimane di trattamento con amisulpride
- *Associazione dei polimorfismi nei geni LEPR e ANKK1 con l'aumento di peso in pazienti affetti da epilessia in trattamento con acido valproico*
- Associazione del genotipo rs1051730 con adesione e consumo di nicotina in corso di terapia sostitutiva durante un programma di cessazione del fumo

⇒ La metanalisi del mese

- Influenza dei polimorfismi di ABCB1 sull'efficacia della terapia standard nella leucemia mieloide acuta: revisione sistematica e meta-analisi degli studi osservazionali

ONCOLOGIA**STUDIO DELL'IMPATTO DELLA VARIABILITÀ GENETICA INDIVIDUALE SULLA CORRELAZIONE TRA L'USO DI ACIDO ACETILSALICILICO E FANS ED IL RISCHIO DI INSORGENZA DI CANCRO AL COLON-RETTO**

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

L'uso prolungato di acido acetilsalicilico (ASA) e di antinfiammatori non steroidei (FANS) è risultato essere associato ad un minor rischio di insorgenza di tumore al colon-retto. Il meccanismo biologico alla base di questa correlazione non è stato ad oggi chiarito. Tuttavia, essendo l'infiammazione cronica uno dei principali fattori di rischio del tumore al colon-retto, si ipotizza che l'azione protettiva dettata dall'uso di FANS risieda, almeno in parte, nella loro capacità di ridurre la produzione di mediatori dell'infiammazione, quali proteina C ed interleuchine. Nonostante alcune evidenze in letteratura supportino il loro utilizzo nella chemioprevenzione del tumore al colon-retto, i FANS non sono attualmente raccomandati a questo scopo per il loro profilo beneficio-rischio non favorevole. In tale contesto, lo studio dell'impatto della variabilità genetica individuale sulla correlazione tra l'uso di FANS e la riduzione del rischio di tumore al colon-retto può rappresentare uno strumento efficace per identificare sottogruppi di pazienti atti a beneficiare di tale trattamento chemiopreventivo. Essendo stati condotti a tale scopo solo studi di associazione con geni candidati, obiettivo di questo studio è stato quello di condurre un'analisi di associazione *genome-wide* mirata ad analizzare la potenziale influenza di polimorfismi a singolo nucleotide sulla correlazione esistente tra uso di FANS e/o ASA ed il rischio di insorgenza di tumore al colon-retto.

Lo studio è stato condotto sui pazienti arruolati nel "Colon Cancer Family Registry" (CCFR) e sui soggetti reclutati in 9 studi caso-controllo nel contesto del "Genetics and Epidemiology of Colorectal Cancer Consortium" (GECCO). I casi sono stati definiti come pazienti affetti da adenocarcinoma al colon-retto, la cui diagnosi è stata confermata da dati clinici, report patologici o certificati di morte. I controlli sono stati appaiati ai casi per sesso, età, etnia ed, in alcuni casi, per ulteriori fattori, quali la data di arruolamento ed il trial di appartenenza. I dati relativi all'esposizione a FANS e/o ASA sono stati raccolti tramite interviste e/o questionari strutturati, utilizzando come data indice quella dell'arruolamento nello studio. A seconda dello studio di appartenenza, il DNA dei pazienti è stato estratto da campioni di sangue intero periferico o da cellule buccali. La genotipizzazione dei campioni è avvenuta tramite l'impiego di piattaforme Illumina od Affimetrix mentre i genotipi delle varianti non direttamente genotipizzate tramite arrays sono stati ottenuti tramite imputazione con HapMap II, IMPUTE, BEAGLE e MACH, a seconda della coorte analizzata. Dopo controllo di qualità della genotipizzazione, sono stati inseriti nell'analisi di associazione *genome-wide* i dati relativi ai genotipi di circa 2.7 milioni di SNPs. L'analisi di associazione tra l'uso prolungato di FANS e/o ASA ed il rischio di insorgenza di tumore al colon-retto è stata condotta separatamente per ogni studio tramite regressione logistica. La combinazione dei risultati ottenuti in ogni coorte è stata effettuata mediante meta-analisi ad effetti fissi. L'analisi dell'impatto degli SNPs genotipizzati sull'associazione tra l'uso di FANS e/o ASA ed il rischio di cancro al colon-retto è stata condotta mediante regressione logistica convenzionale tramite un'analisi basata su un approccio *case-only*, considerata anch'essa una buona strategia per determinare interazioni gene-ambiente. Il livello di significatività statistica *genome-wide* è stato fissato a $P < 5 \times 10^{-8}$.

Sono stati inclusi nello studio 8634 casi di adenocarcinoma al colon-retto e 8553 controlli di etnia caucasica. Dall'analisi di regressione logistica è emerso come l'utilizzo regolare di ASA/FANS od entrambi sia associato ad una riduzione del rischio di insorgenza di cancro al colon-retto rispetto ai soggetti non in trattamento prolungato con tali farmaci (OR 0.69, 95% CI: 0.64-0.74, $P=6.2 \times 10^{-28}$; eterogeneità: $P=0.02$). Se si confrontano pazienti in trattamento regolare con ASA/FANS rispetto ai soggetti non in terapia con tali farmaci, risulta come la variante rs2965667, localizzata sul cromosoma 12p12.3, sia correlata al rischio di insorgenza di tumore al colon-retto ($P=4.6 \times 10^{-9}$). Nello specifico, gli utilizzatori regolari di ASA/FANS con genotipo rs2965667TT sono risultati avere un rischio più basso di tumore al colon-retto rispetto agli utilizzatori non regolari di ASA/FANS con il medesimo genotipo (OR 0.66, 95% CI: 0.61-0.70; $P=7.7 \times 10^{-9}$).

³³). Al contrario, gli utilizzatori regolari di ASA/FANS con genotipo rs2965667TA o AA manifestano un rischio più alto di incidenza di tumore al colon-retto rispetto agli utilizzatori non regolari di ASA/FANS con i medesimi genotipi (OR 1.89, 95% CI:1.27-2.81, P=0.002). Analogamente, la variante rs10505806, in forte *linkage disequilibrium* con rs2965667 (D'=1.0, r²=0.74), risulta essere statisticamente associata al rischio di insorgenza di tumore al colon-retto nell'analisi di comparazione tra utilizzatori regolari e non regolari di ASA/FANS. Infatti, i portatori del genotipo *wild-type* per rs10505806 (AA) negli utilizzatori regolari di ASA/FANS risultano avere un rischio minore di insorgenza di tumore al colon-retto rispetto ai non utilizzatori di tali farmaci con il medesimo genotipo (OR 0.66, 95% CI:0.61-0.70, P=8.7 x 10⁻³³). Infine, comparando utilizzatori regolari e non regolari di ASA/FANS con un approccio statistico *case-only*, è emerso come anche la variante rs16973225, localizzata sul cromosoma 15q25.2, risulti essere statisticamente associata al rischio di insorgenza di tumore al colon-retto (P=8.2 x 10⁻⁹). Sono stati, quindi, calcolati i rischi assoluti associati all'uso di ASA/FANS sulla base dei genotipi dei 3 top SNPs emersi dall'analisi statistica. Nello specifico, l'uso regolare di ASA/FANS è risultato determinare una riduzione di: i) 16.6 casi di carcinoma al colon-retto per 100000 individui nei soggetti con genotipo rs2965667TT; ii) 16.7 casi di carcinoma al colon-retto per 100000 individui nei soggetti con genotipo rs10505806AA; iii) 16.8 casi di carcinoma al colon-retto per 100000 individui nei soggetti con genotipo rs16973225AA.

Da questo studio di associazione *genome-wide* si evince come le varianti rs2965667 e rs10505806 influenzino il rischio di insorgenza di adenocarcinoma al colon-retto nei pazienti in trattamento regolare con ASA/FANS. Ambedue le varianti sono localizzate a 927-971 kb a valle della glutatione S-transferasi microsomiale (MGST1), una proteina appartenente alla super-famiglia delle proteine MAPEG (*membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism*). MGST1 presenta una forte omologia di sequenza con MGST1L1 (prostaglandina E-sintetasi), a sua volta co-espressa e funzionalmente accoppiata alla cicloossigenasi 2 (COX-2). L'attività combinata di MGST1L1 e COX-2 risulta in un aumento della produzione della prostaglandina proinfiammatoria E₂ (PGE₂), che costituisce una delle molecole attive nel *pathway* oncogenico WNT, essenziale nella carcinogenesi nel tumore al colon-retto. Inoltre, la variante rs2965667 è localizzata a 970 kb a monte del gene PIK3C2G, che codifica per una proteina appartenente alla famiglia delle fosfatidilinositol-4,5-bisfosfonati 3-chinasi (PI3K). Evidenze sperimentali suggeriscono come l'attivazione del *pathway* di segnalazione di PI3K aumenti la produzione di COX-2 e PGE₂, risultante nell'inibizione del processo di apoptosi in linee cellulari di tumore al colon-retto. Tale processo di apoptosi sembra invece essere ripristinato dal blocco delle PI3K tramite assunzione di FANS. Infine, la variante rs16973225 è localizzata a 625 kb dal gene codificante per l'interleuchina 16 (IL16). L'interleuchina 16 sembra infatti: i) stimolare il rilascio di altre citochine pro-infiammatorie associate alla carcinogenesi, tra le quali IL-6 e TNF α ; ii) indurre l'espressione di COX2; iii) attivare il *pathway* di segnalazione WNT. Sulla base di queste evidenze si può ipotizzare che varianti del gene IL16 o prossime ad esso possano regolare la produzione di citochine infiammatorie in grado di alterare l'effetto chemioprotettivo dei FANS in pazienti affetti da adenocarcinoma al colon-retto. Nonostante la numerosità dei soggetti inclusi sia ottimale e vi sia un'assenza di eterogeneità tra gli studi inclusi in questo GWAS, si evidenzia la necessità di validare i dati ottenuti in questo studio in un'ulteriore coorte di replicazione, ivi assente per scelta degli Autori.

Le varianti rs2965667, rs10505806 ed rs16973225 influenzano il rischio di insorgenza di tumore al colon-retto in pazienti in trattamento regolare con FANS e/o acido acetilsalicilico.

Parole chiave: FANS, adenocarcinoma al colon-retto, rs2965667, rs10505806, rs16973225

Riferimento bibliografico

Nan H et al. *JAMA* 2015, 313(11):1133-42.

L'INSTABILITÀ DEI MICROSATELLITI E LE MUTAZIONI DI BRAF E KRAS SONO FATTORI PREDITTIVI PER IL TUMORE DEL COLON DISSEMINATO

A cura delle Dott.sse Valentina Citi e Marzia Del Re

Il carcinoma del colon-retto (CRC) rappresenta la terza tipologia di tumore più diffusa al mondo e la seconda causa di morte. Nel 20-25% dei casi già alla diagnosi sono presenti metastasi e il 30% dei pazienti va

incontro a progressione nel periodo di *follow up*: nella maggior parte di questi casi la prognosi è infausta. Pazienti affetti da CRC allo stadio II hanno circa il 15% di rischio di recidiva e non è prevista la terapia adiuvante, a meno che non siano considerati ad alto rischio. Pazienti con CRC allo stadio III hanno invece circa il 40% di rischio di recidiva e la terapia adiuvante con 5-fluorouracile ne riduce il rischio al 30%. Per quanto riguarda le alterazioni molecolari e l'eziologia del CRC, sono state identificati alcuni fattori genetici che possono essere coinvolti, tra cui l'instabilità dei microsatelliti (MSI) e polimorfismi di KRAS e BRAF, implicati sia nei processi di carcinogenesi che nella comparsa di recidiva. L'insorgenza del CRC è causata dalla presenza di mutazioni di geni che regolano la crescita cellulare, in particolare KRAS, BRAF e PIK3CA, utilizzati finora come anche come fattori prognostici. Tuttavia il loro significato clinico non è ancora del tutto chiaro a causa della vasta eterogeneità del CRC.

Per una migliore comprensione del ruolo delle mutazioni di KRAS, BRAF, PIK3CA e dell'instabilità dei microsatelliti, gli Autori di questo studio hanno analizzato campioni di tessuto tumorale di 121 pazienti (50 maschi, 71 femmine; stadio II n=40; stadio III n=55; stadio IV n=26; dimensioni tumore primario < 5cm n=38, >5cm n=83) classificandoli in base alla presenza di mutazioni dei geni sopra citati in modo da evidenziare eventuali correlazioni tra stato mutazionale e tempo di recidiva. Il DNA è stato estratto dai campioni tissutali conservati a -80°C utilizzando il QIAamp DNA Mini Kit e sono stati analizzati il codone 600 per BRAF, i codoni 12, 13 e 61 negli esoni 2 e 3 per quanto riguarda KRAS e i codoni 542, 545 e 546 nell'esone 9 e i codoni 1043 e 1047 nell'esone 20 per PIK3CA. Inoltre MSI è stato valutato attraverso l'analisi di cinque ripetizioni nucleotidiche quali BAT25, BAT26, NR-21, NR-24 e MONO-27.

Dei 121 campioni analizzati il 40 % è risultato KRAS mutato (codone 12 il 65%, codone 13 il 31 % e codone 61 il 4 %), il 23% mutato per il codone 600 di BRAF e il 18% mutato per PIK3CA (codone 9 l'82% e codone 20 il 18%). MSI *high* (MSI-H) è stato rilevato in 24 campioni (20%) e MSI *low* (MSI-L) in 7 (6%). Ciò che emerge è che la mutazione di KRAS è associata a uno stadio avanzato e disseminato della malattia (28% stadio II, 38% stadio III e 62% stadio IV), la mutazione di PIK3CA è principalmente presente in cellule poco differenziate, la mutazione di BRAF e MSI sono rilevabili negli stadi iniziali del tumore (in particolare BRAF nel 30% stadio II, 22% stadio III e 15% stadio IV e MSI nel 33% stadio II, 16% stadio III e 8% stadio IV). Viene inoltre confermata la mutua esclusività delle mutazioni di KRAS e BRAF, e MSI è principalmente presente nei KRAS *wild type*. La mutazione di PIK3CA è significativamente associata alla presenza della mutazione di BRAF e di MSI e, in contrasto alla mutua esclusività tra BRAF e KRAS, coesiste con i due geni mutati.

La mutazione di KRAS è principalmente presente in caso di tumore in stadio avanzato e disseminato ed in particolare la mutazione G12V è stata riscontrata in 10 casi di CRC su 34. Nel tentativo di identificare specifici sottogruppi molecolari che possano aiutare a identificare pazienti con alto e basso rischio di recidiva, sono state analizzate diverse combinazioni dei biomarkers di interesse. Pazienti che presentano KRAS *wild type* e MSI, hanno un ridotto rischio di disseminazione (OR 0.22; 95% CI 0.08-0.62) e di recidiva (OR 0.31; 95% CI 0.10-0.94) a differenza di quanto avviene per pazienti che invece presentano BRAF *wild type* e microsatelliti stabili (MSS) (alto rischio di recidiva: OR 3.55; 95% CI 1.33-9.44). Al contrario, tumori con BRAF mutato e MSI hanno un basso rischio di disseminazione e di recidiva (OR 0.32; 95% CI 0.10-1.08).

Questo studio ha messo in evidenza che la disseminazione delle cellule tumorali è correlata a BRAF *wild type* + MSS, e a KRAS mutato + MSI. Nonostante il numero limitato di casi analizzati, la percentuale di KRAS mutato è perfettamente in linea con altri studi pubblicati così come la proporzione di KRAS mutato in pazienti affetti da tumore in stadio avanzato.

Ad oggi lo stato mutazionale di KRAS è valutato in clinica a causa alla sua importanza predittiva nei pazienti *wild type* che ricevono la terapia con inibitori di tirosin chinasi anti-EGFR. Tuttavia rimane controverso il valore prognostico di KRAS: alcuni studi (RASCAL II) mostrano che mutazioni sul codone 12, in particolare la G12V, è associata a una prognosi peggiore in caso di CRC stadio III, altri studi come PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 non hanno evidenziato nessuna correlazione. Oltre alle mutazioni di KRAS e BRAF, questo studio pone l'attenzione anche sui polimorfismi di PIK3CA, in particolare quelli riguardanti la subunità p110 α , responsabile dell'attività chinasi: la coesistenza di mutazioni negli esoni 9 e 20 ha rilevato una prognosi peggiore nei CRC. Tuttavia queste ultime non correlano in maniera significativa

con la disseminazione tumorale, affermazione supportata anche in altri studi in cui vengono presi in esame campioni più numerosi di pazienti. In conclusione, tumori con BRAF mutato e MSI riducono la diffusione delle cellule tumorali, a differenza di quanto avviene nei casi di KRAS mutato in cui il rischio di disseminazione della malattia è significativamente maggiore.

Parole chiave: CRC, BRAF, KRAS, MSI, PIK3CA

Riferimento bibliografico

Birgisson H et al. *BMC Cancer* 2015, 15:125.

UN PRIMO PASSO VERSO LA MEDICINA PERSONALIZZATA NELL'OSTEOSARCOMA: FARMACOGENETICA COME MARKER PREDITTIVO DELL'OUTCOME DOPO CHEMIOTERAPIA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

L'osteosarcoma (OS) rappresenta il tipo di tumore alle ossa più diffuso tra i bambini e i giovani adulti; sebbene l'*outcome* clinico sia migliorato dopo l'introduzione della chemioterapia multi-farmaco, la sopravvivenza per questi pazienti rimane ancora scarsa. Ad oggi, il tasso di guarigione per pazienti affetti da osteosarcoma non metastatico si aggira intorno al 55-65%. Molti fattori influenzano la risposta finale al farmaco come la presenza di metastasi, il sito e la dimensione tumorale, l'età alla diagnosi, l'approccio chirurgico e la risposta del tumore alla chemioterapia pre-operatoria. Tuttavia, data l'assenza di agenti farmacologici attivi per il trattamento dell'OS, negli anni si è registrato l'omogeneizzazione della chemioterapia per tutti i pazienti e ciò rende sempre più importante l'identificazione di strategie nuove o alternative per migliorare il tasso di risposta dei pazienti. La farmacogenetica quindi risponde a questa esigenza con l'obiettivo ambizioso di potere essere utile nella stratificazione dei pazienti prima dell'inizio del trattamento. Fino ad oggi nessuno studio ha investigato globalmente un set di geni coinvolti nel metabolismo dei due farmaci principali impiegati nel trattamento dell'osteosarcoma, il cisplatino e la doxorubicina.

Date le suddette premesse, lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare l'associazione tra la risposta clinica ed un set di varianti genetiche in 54 geni, conosciuti per essere coinvolti nel metabolismo di questi 2 farmaci.

L'analisi ha coinvolto un *discovery group* (DG) di 126 individui e un gruppo per la validazione di 64 con osteosarcoma primario e/o metastatico trattati tra il 1979 e il 2008. In entrambi i gruppi erano state utilizzati due regimi chemioterapici con un dosaggio cumulativo massimo di 600mg/m² per il cisplatino e di 450mg/m² per la doxorubicina; dal 2002 in poi, i pazienti erano invece stati trattati con cisplatino (480mg/m²)/doxorubicina (450mg/m²) ed eventualmente metotrexate (MTX) ad alte dosi (96-144 g/m²).

Nei 54 geni, sono stati selezionati gli SNPs associati a cambi amminoacidici funzionali per un totale di 381 polimorfismi analizzati mediante piattaforma Illumina.

La sopravvivenza libera da progressione (PFS)(progressione/ricaduta = evento) a 5 anni è stata calcolata come intervallo temporale tra la diagnosi e la progressione della malattia.

Allo scopo di identificare possibili incrementi del segnale di associazione è stata condotta una meta-analisi sul gruppo di *discovery* e di validazione per quelle varianti statisticamente significative nel DG. Per valutare l'effetto delle varianti genetiche su PFS e su risposta istologica, i dati sono stati dicotomizzati in evento/non evento e responsivi/non responsivi; per valutare l'effetto della combinazione di più varianti sulla PFS è stato generato un punteggio di rischio (*risk score*, RS) costruito in base al numero di alleli non favorevoli (0-1,2-3,4-5, o >5 alleli di rischio) che ogni paziente aveva.

In totale sono stati arruolati 190 pazienti, di cui 177 sono stati genotipizzati con successo (120 nel *discovery group* e 57 in quello di validazione). Dall'analisi di associazione con la risposta istologica sono stati esclusi 149 SNPs per frequenza allelica <0.05, deviazione dall'equilibrio di HW o per call rate <85% nel *discovery group*; in totale, 10 SNPs sono risultati significativi ma dopo la meta-analisi solo 2 hanno mantenuto tale significatività, entrambi localizzati nel gene MSH6 (rs3136326, rs1800936).

Per l'associazione con la PFS è stata condotta una regressione lineare multivariata corretta per alte dosi di MTX che ha portato all'identificazione di 23 SNPs significativi; di questi, 9 sono stati esclusi per bassa call rate nel gruppo di validazione. La meta-analisi condotta sui 14 SNPs rimanenti ha evidenziato che per 5 SNPs (FASLG rs763110, MSH2 rs4638843, ABCC5 rs939338, XDH rs2720376, CYP3A4 rs4646437) si aveva un p-value maggiormente significativo rispetto a quello del solo DG (p-value DG vs p-value meta-analisi: rs763110 0.04 vs 0.02; rs4638843, 0.04 vs 0.007; rs939338, 0.03 vs 0.03; rs2720376, 0.02 vs 0.01; rs4646437 0.02 vs 0.02).

Il punteggio di rischio per la PFS è stato calcolato basandosi sui 5 SNPs significativi (FASLG rs763110, MSH2 rs4638843, ABCC5 rs939338, XDH rs2720376, CYP3A4 rs4646437); i pazienti sono stati quindi raggruppati in 4 gruppi in base allo score (0-1, 2-3, 4-5 o >5). I risultati hanno mostrato che gli individui senza o con 1 allele di rischio avevano una PFS del 100% comparata con 84.4% (2 o 3 alleli di rischio), 66.7% (4 o 5 alleli di rischio) e 41.8% (più di 5 alleli di rischio) ($p < 0.001$). Infine nell'analisi è stata considerata anche la presenza di metastasi: in questo modo la PFS per pazienti senza metastasi alla diagnosi era del 100% ($p = 0.008$). Nei pazienti con metastasi alla diagnosi, tutti gli individui erano portatori di almeno 2 alleli di rischio; la PFS degli individui con 2-3 alleli di rischio e metastasi era dell'80% mentre era rispettivamente di 53.2% e 12.5% per i gruppi con 4 o 5 alleli e con più di 5 alleli di rischio ($p = 0.007$).

In conclusione, questo studio, da considerarsi di tipo esploratorio, ha permesso di identificare diversi geni che potrebbero essere associati con la risposta al trattamento nell'osteosarcoma.

Tuttavia la replicazione di questi dati in coorti indipendenti e studi clinici prospettici rimane assolutamente necessaria per affermare l'importanza di queste varianti farmacogenetiche nell'osteosarcoma.

Parole chiave: osteosarcoma, cisplatino e doxorubicina, piattaforme *next-gen sequencing*

Riferimento bibliografico

Hagleitner MM et al. *Clin Cancer Res* 2015 Mar 31 [Epub ahead of print].

LA VARIANTE RS16754 DEL GENE DEL TUMORE DI WILMS 1 (WT1) PREDICE UN ESITO CLINICO FAVOREVOLE PER I PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA DELLA POPOLAZIONE DELLA CINA DEL SUD

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

La Leucemia Mieloide Acuta (LMA) è il più comune tipo di leucemia acuta negli adulti e si stima abbia un'incidenza annua di 3-4 casi per 100 mila persone. Questa patologia, caratterizzata dalla presenza di cellule staminali pluripotenti che perdono la loro capacità di differenziarsi normalmente, è frequentemente associata a mutazioni a carico dei geni NPM1, TET2 e WT1. Il gene del tumore di Wilms 1 (WT1) è localizzato nel cromosoma 11p13 e codifica per un fattore di trascrizione, con un dominio di regolazione trascrizionale N-terminale e un dominio *zinc finger* C-terminale, il quale gioca un ruolo fondamentale nello sviluppo dei sistemi urogenitale ed ematopoietico. Circa il 7-10% di pazienti affetti da LMA presenta mutazioni del gene WT1, principalmente localizzate negli esoni 7 e 9. L'espressione di questo gene è rilevabile nei precursori delle cellule CD4⁺, ma risulta sottoespresso durante il processo di differenziamento ematopoietico, e non detectabile in leucociti maturi. La sovraespressione di WT1 è rilevabile nella maggior parte dei pazienti affetti da LMA al momento della diagnosi, ma essa scompare quando si raggiunge la remissione completa (CR) in seguito a trattamento con chemioterapici. Il polimorfismo sinonimo rs16754, localizzato nell'esone 7, mostra notevoli differenze etnografiche. Infatti, mentre nella popolazione caucasica è predominante l'allele A, in quella cinese predomina l'allele G. Gli autori di questo studio hanno valutato in pazienti cinesi con LMA il ruolo prognostico di rs16754 ed il suo impatto sull'espressione mRNA di WT1, in campioni di midollo osseo.

La coorte è stata allestita con 205 cinesi Han affetti da LMA che avevano disponibilità di campioni di midollo osseo o sangue periferico, ospedalizzati fra maggio 2009 e aprile 2013. I pazienti con il sottotipo 3 di LMA sono stati esclusi a causa della presenza di uno specifico gene di fusione, il PML-RARa, causato

dalla traslocazione t(15;17), che interferisce con la risposta al trattamento rispetto agli altri sottotipi di LMA. Anche i pazienti con gravi patologie o altre tipologie di cancro sono stati esclusi. Sono stati inoltre raccolti campioni di sangue venoso da 188 volontari sani.

Tutti i pazienti hanno ricevuto un'induzione standard di chemioterapia consistente in 45-60 mg/m² di daunorubicina o 8-10 mg/m² di mitoxantrone nei giorni 1-3 e 200 mg/m² di citarabina nei giorni 1-7. Sono stati somministrati uno o due cicli di induzione chemioterapica per ottenere la remissione completa; una volta raggiunta la CR, i pazienti sotto i 60 anni hanno subito un trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (allo-SCT) o sono stati sottoposti ad altri cicli di citarabina ad alte dosi. Per i pazienti più anziani, o refrattari alla terapia, o con ricadute, si è ricorsi ad una terapia di salvataggio. Come indice della risposta farmacologica è stata considerata la remissione completa (CR), definita come l'assenza di sintomi leucemici, quali la presenza di blasti nel midollo osseo inferiore al 5%, l'assenza di patologie extramidollari, una conta di neutrofili superiore a 1x 10⁹/L e di piastrine maggiore di 100x 10⁹/L. La sopravvivenza globale (OS) è stata definita dal giorno di ingresso in ospedale a quello di morte per qualunque causa, la sopravvivenza libera da ricaduta (RFS) è stata calcolata unicamente per i pazienti che hanno raggiunto la CR, considerando il periodo trascorso fra il giorno di raggiungimento della remissione completa, a quello di una ricaduta per LMA o di morte per qualunque causa.

Il DNA genomico è stato estratto dal sangue venoso o dai campioni di midollo osseo. La variante rs16754 è stata determinata tramite spettrometria di massa con ionizzazione a tempo di volo. E' stata inoltre utilizzata la tecnica di PCR-RFLP per validare i genotipi per tutti i pazienti con LMA. Campioni di midollo osseo sono stati raccolti da 81 pazienti con LMA.

La distribuzione genotipica del polimorfismo rs16754 è risultata in equilibrio di Hardy-Weinberg sia nei pazienti sia nei controlli sani: dei 205 pazienti analizzati, 108 sono risultati GG (53%), 82 GA (40%) e 15 AA (7%), mentre per i controlli è, rispettivamente, 94 (50%), 79 (42%) e 15 (8%). Poiché il numero di WT1^{AA} è piuttosto ridotto, nelle successive analisi, WT1^{AA} e WT1^{GA} sono stati combinati in un unico gruppo. Il valore di CR fra i due gruppi è comparabile (70,1% per WT1^{GA/AA} e 64,8% per WT1^{GG}), mentre i pazienti con genotipo WT1^{GA/AA} hanno una prolungata OS (media: 1045 giorni) rispetto ai pazienti con genotipo WT1^{GG} (media: 737 giorni). Per quanto riguarda RFS, il primo gruppo ha mostrato un *outcome* più favorevole (una media di 1124 giorni contro 830).

Poiché in uno studio precedente era stato riportato che pazienti con età compresa tra 50 e 70 anni e genotipo WT1^{AA} presentavano un *outcome* clinico migliore, i pazienti di questa coorte sono stati divisi in due gruppi in base ad un'età inferiore o maggiore di 45 anni. Nel gruppo dei più anziani, chi presentava il genotipo WT1^{GA/AA} è risultato avere una OS prolungata (1023 giorni contro 156 giorni) e RFS (1206 giorni contro 335 giorni) rispetto a chi aveva genotipo WT1^{GG}. Nel gruppo dei più giovani, invece, non sono state riscontrate differenze significative per i valori di OS e RFS.

È stato poi valutato l'impatto prognostico di WT1 rs16754 su OS e RFS ed i risultato hanno evidenziato che la stratificazione del rischio basata sulla presenza di anomalie citogenetiche e molecolari è il predittore più rilevante per OS. Infine è stata valutata l'espressione mRNA di WT1 sui campioni di midollo osseo di 81 pazienti, di cui 40 (50%) risultati portatori del genotipo WT1^{GG}, 35 (43%) WT1^{GA} e 6 (7%) WT1^{AA}. Fra questi pazienti, è stata riscontrata una sovraespressione di WT1 in 71 campioni (88%) ed i portatori del genotipo WT1^{GG} mostravano livelli maggiori di espressione mRNA rispetto ai soggetti con genotipo WT1^{GA/AA}.

In questo studio, nonostante non sia stata evidenziata una correlazione con la risposta al trattamento, il polimorfismo WT1 rs16754 è risultato associato ad una diminuzione dell'espressione mRNA di WT1 e a maggiore OS e RFS, soprattutto nei pazienti anziani. Il meccanismo attraverso il quale WT1 rs16754 possa agire rimane poco chiaro. Gli autori suggeriscono che WT1 rs16754, determinando la sostituzione del codone CGG con CGA, possa determinare una modifica della cinetica di traslazione della proteina. Così come la sovraespressione di WT1 predice una minor sopravvivenza alla LMA, i dati di questo studio suggeriscono come il polimorfismo rs16754 possa incrementare la sopravvivenza di questi pazienti attraverso la diminuzione dell'espressione di WT1 in modo diretto o indiretto.

In conclusione, il genotipo GA/AA della variante WT1 rs16754 determina una diminuzione dell'espressione mRNA di WT1 e conferisce una maggiore sopravvivenza in pazienti cinesi Han affetti da LMA.

Parole chiave: Leucemia Mieloide Acuta; Remissione complete; Polimorfismo a singolo nucleotide; *Tumore di Wils 1*

Riferimento bibliografico

Zhang DY et al. *Leuk Res.* 2015 Mar 19 [Epub ahead of print].

IMMUNOMODULAZIONE

LE VARIAZIONI DI ESPRESSIONE DEGLI MRNA PRECEDONO I CAMBIAMENTI DI ESPRESSIONE DEI MIRNA NELLA PELLE LESIONATA COLPITA DA PSORIASI DURANTE IL TRATTAMENTO CON ADALIMUMAB

A cura delle Dott.sse Sara De Iudicibus e Marianna Lucafò

I microRNA (miRNA) sono piccole molecole di RNA non codificante di circa 22 nucleotidi che regolano l'espressione di geni target a livello post-trascrizionale. Una regolazione alterata dei miRNA può contribuire allo sviluppo di patologie umane e recentemente è stato attribuito un loro ruolo anche nella patogenesi di varie malattie della pelle, tra cui la psoriasi. Nella psoriasi è noto infatti che l'espressione di alcuni miRNA tra cui il miR-31, miR-203, miR-21 e miR-146a risulta aumentata nella pelle lesionata da questa malattia. Il TNF- α svolge un ruolo importante nella patogenesi della psoriasi, e trattamenti che prevedono l'utilizzo di anti-TNF- α come adalimumab, etanercept, infliximab, rappresentano una strategia terapeutica ben consolidata per psoriasi da moderate a gravi. Studi precedenti hanno dimostrato che i miglioramenti clinici ed istologici emergono dopo 10-14 giorni di trattamento: tuttavia, è stato dimostrato che nella pelle colpita da psoriasi lesionata, i livelli di mRNA di IL-1 β , IL-8, IL-20 e IL-17C diminuiscono in modo significativo già quattro giorni dopo l'inizio del trattamento e quindi precedono i miglioramenti clinici ed istologici.

Lo scopo del presente studio è stato quello di identificare in biopsie di cute lesionata e non lesionata di pazienti psoriasici, i miRNA deregolati durante il trattamento con adalimumab ed inoltre, per caratterizzare gli effetti indotti dal TNF- α sull'espressione dei miRNA, gli autori hanno analizzato il pattern di espressione dei miRNA in modelli murini, *wild type* (wt) o *knockout* (KO) per TNF- α e IL-17A, trattati con l'immunomodulatore imiquimod (Aldara) al 5% per indurre un'inflammatione della cute simile a quella causata da psoriasi.

Nello studio sono stati arruolati 10 pazienti con psoriasi trattati con adalimumab secondo i protocolli condivisi, 7 maschi e 3 femmine con un'età media di 50,6 (35-65) anni; la media basale dell'indice di severità della psoriasi (PASI) è stato di 21,1 (12,8-38,6), che è stato ridotto a 1,7 (0,0-6,2) dopo 11-13 settimane di trattamento. Il gruppo di controllo comprendeva 4 femmine e 2 maschi con un'età media di 36,3 (29-50) anni.

I pazienti hanno ricevuto 80 mg di adalimumab al giorno zero e successivamente 40 mg a settimane alterne, con inizio al settimo giorno. Biopsie da 4 millimetri di cute lesionata e non lesionata con psoriasi sono state raccolte prima del trattamento (giorno zero) e a 4, 14, 42 e 84 giorni dopo l'inizio del trattamento. La risposta clinica è stata valutata considerando l'area colpita da psoriasi e l'indice di severità prima e dopo 12 settimane dall'inizio del trattamento.

La colorazione dei preparati a base di ematossilina e eosina non ha mostrato cambiamenti istologici dopo quattro giorni di trattamento, mentre una riduzione dello spessore epidermico è stato osservato dopo 14 giorni di trattamento. Al contrario, l'espressione dell'IL-8 diminuiva significativamente già dopo quattro giorni di trattamento, confermando un modello di risposta simile a quello riportato già in letteratura.

Per studiare le variazioni di espressione dei miRNA durante il trattamento con adalimumab, i campioni sono stati valutati con analisi di microarray. Complessivamente, 369 miRNA hanno raggiunto il limite di rilevabilità in tutti i campioni e sono stati pertanto inclusi nell'analisi dei dati. Dei 369 miRNA indagati in totale, 63 hanno mostrato cambiamenti significativi nei livelli di espressione nel confronto tra cute lesionata e non lesionata nei pazienti non trattati: 49 di questi miRNA erano significativamente up-regolati, mentre 14

erano down-regolati. In linea con gli studi precedenti, è stato osservato che miR-203, miR-146a, miR-21 e miR-31, tra gli altri, erano up-regolati nella cute psoriasica lesionata.

Nessuna alterazione dei livelli di espressione dei miRNA è stata osservata dopo quattro giorni di trattamento con adalimumab, mentre dopo 14 giorni di trattamento, è stata dimostrata una diminuzione dell'espressione di 17 miRNA, tra cui miR-203, miR-146a, miR-21 e miR-31, che risultavano up-regolati nella cute lesionata prima di iniziare il trattamento, e tale espressione tende a raggiungere livelli simili a quella dei campioni di pelle non lesionata. Allo stesso modo, l'espressione di 5 miRNA che risultavano down-regolati nella cute lesionata prima della terapia a base di adalimumab, dopo 14 giorni di trattamento aumentavano. Circa il 2/3 dei miRNA non ha mostrato cambiamenti nei livelli di espressione dopo 14 giorni di trattamento con adalimumab, nonostante la loro espressione differisse tra cute lesionata e non lesionata prima di iniziare il trattamento.

La variazione di espressione dei miRNA regolati (tra cui miR-125a, let-7d, miR-214-3p) e non (tra cui miR-203, miR-146a, miR-31 e miR-21) dopo 14 giorni di trattamento è stata valutata mediante tecniche di RT-qPCR dopo 42-84 giorni di trattamento con adalimumab. I risultati dimostravano che i livelli dei miRNA presi in esame tendevano a raggiungere i livelli di espressione osservati nei campioni di cute non lesionata ad esclusione del miR-31.

Inoltre, per valutare la relazione tra TNF- α e miRNA nelle prime fasi di evoluzione della psoriasi, sono stati studiati i cambiamenti nel profilo di espressione dei miRNA nel modello murino di cute infiammata indotta da Aldara, wt e KO per il TNF- α e IL-17A.

Gli esami istologici e i livelli di CXCL1 (un analogo murino dell'IL-8 umana) hanno mostrato un diverso grado di infiammazione, inferiore nei topi KO per TNF- α rispetto ai topi wt. L'infiammazione indotta da Aldara ha provocato un cambiamento di espressione solo del miR-146a che aumentava significativamente in topi wt trattati con Aldara, mentre un aumento non significativo è stato osservato nei topi KO per TNF- α .

I risultati di questo studio dimostrano che i cambiamenti nei livelli di espressione delle citochine dopo 4 giorni di trattamento con adalimumab non dipendono da una variazione di espressione precoce dei miRNA, che invece variano dopo 14 giorni. I cambiamenti di espressione dei miRNA dopo 14 giorni sembrano quindi essere correlati ad un miglioramento della condizione clinica rispetto che al trattamento anti-TNF utilizzato: al quattordicesimo giorno infatti alcuni dei miRNA della pelle lesionata sembrano regolarsi avvicinandosi all'espressione della pelle non lesionata. Prospettive future prevedono di estendere quest'analisi anche a pazienti non responsivi al trattamento, in modo da poter correlare i profili dei miRNA regolati alla risposta clinica del paziente per ottenere marker farmaco genetici predittivi.

Parole chiave: microRNA, psoriasi, adalimumab, citochine

Riferimento bibliografico

Raaby L et al. *Br J Dermatol* 2015 Feb 9 [Epub ahead of print].

INFETTIOLOGIA

VARIANTI NEL GENE CYP4502B6 SONO ASSOCIATE AI LIVELLI PLASMATICI DI NEVIRAPINA E ALLA RISPOSTA CLINICA IN DONNE KENIANE HIV-1 POSITIVE: UNO STUDIO DI COORTE PROSPETTICO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

L'infezione dell'HIV-1 è epidemica in Kenya e colpisce le donne in percentuale superiore agli uomini (8% vs 4%). Più del 70% dei pazienti viene trattato con la terapia antiretrovirale (ART) a base di nevirapina, un farmaco a basso costo, efficace e maneggevole. Tuttavia, l'uso di nevirapina è limitato a causa delle associate reazioni di ipersensibilità che si manifestano con epatotossicità, febbre e rash cutanei e per i frequenti fenomeni di resistenza al trattamento che si possono instaurare sia a livello plasmatico sia genitale.

Inoltre, non tutti i pazienti rispondono con successo alla terapia e questo può dipendere da vari fattori, come l'aderenza al trattamento, il genere del paziente, le terapie concomitanti e i geni responsabili del metabolismo del farmaco. La nevirapina è metabolizzata prevalentemente dai citocromi CYP3A4 e CYP2B6 e l'attività enzimatica di quest'ultima isoforma è fortemente influenzata dalla presenza di diversi polimorfismi, che sembrano avere un'importanza fondamentale nelle popolazioni dell'Africa sub-sahariana.

Lo SNP CYP2B6 516G>T (rs3745274), che comporta una riduzione della sintesi epatica e dell'attività del CYP, è più frequente negli Africani rispetto ai Caucasiche. Lo SNP CYP2B6 983T>C (rs28399499), che è un "null allele", è addirittura assente nelle popolazioni Caucasiche ed è, invece, presente in quelle Africane con una frequenza che varia dal 4%–11%.

Lo scopo di questo studio è stato investigare la possibile associazione tra le varianti summenzionate e i livelli plasmatici di nevirapina e tra le varianti e gli *outcome* clinici della terapia. Infine è stato studiato l'impatto dei polimorfismi sulla resistenza alla terapia ART a base di nevirapina.

La popolazione in studio era rappresentata da un sottogruppo di pazienti di genere femminile già reclutate durante uno studio più ampio, che si proponeva di valutare l'impatto della terapia ART in una coorte di donne HIV-1 positive che lavoravano a Mombasa, in Kenya (Graham SM et al. *J Infect Dis* 2010, 202:1538–42; Graham SM et al. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012, 60:511–8).

La terapia standard alla quale erano sottoposte le pazienti includeva un regime di nevirapina, 200 mg al giorno per 14 giorni seguito da 200 mg due volte al giorno, co-somministrata con stavudina o zidovudina più lamivudina. Per favorire l'aderenza al trattamento, le pazienti sono state osservate mentre assumevano il farmaco almeno durante il primo mese di terapia, inoltre, le pillole di farmaco sono state confezionate in una scatola recante un organizer, che è stata controllata a ogni visita.

Gli *outcome* clinici principali, monitorati al terzo, sesto e dodicesimo mese, erano la presenza di rash cutanei, la conta dei linfociti CD4⁺ e la carica virale plasmatica e genitale. Infine, sono stati misurati i livelli di RNA del virus HIV-1 per stimare l'evenienza di resistenza alla terapia. Le concentrazioni plasmatiche di nevirapina sono state misurate tramite HPLC dopo 10-14 settimane dall'inizio della terapia. Il DNA è stato estratto dai monociti isolati da sangue periferico mediante un kit commerciale e la genotipizzazione per gli SNPs CYP2B6 516G>T (rs3745274) e CYP2B6 983T>C (rs28399499) è stata eseguita tramite Real time PCR e sonda Taqman.

Le pazienti omozigoti *wild type* (CYP2B6-516GG e -983TT) sono state classificate come "metabolizzatrici estensive", le eterozigoti per la presenza di uno solo degli SNP "metabolizzatrici intermedie", mentre le omozigoti per la presenza delle varianti (516TT, 983CC, o 516GT con 983TC) "metabolizzatrici lente".

Il numero dei CD4⁺ e i livelli della carica virale plasmatica (PVL) sono stati misurati a 3, 6 e 12 mesi dall'inizio del trattamento farmacologico.

Sessantanove pazienti sono state incluse nello studio e in 66/69 le concentrazioni plasmatiche di nevirapina sono risultate più alte alla dodicesima settimana di terapia rispetto all'inizio nelle donne omozigoti ed eterozigoti per l'SNP CYP2B6 516G>T. Un comportamento analogo è stato evidenziato nel caso dell'altro polimorfismo analizzato, CYP2B6 983T>C. Quindi, le concentrazioni plasmatiche di farmaco erano più alte nelle pazienti metabolizzatrici lente e intermedie. Inoltre, i livelli plasmatici più alti di nevirapina erano anche associati a valori di PVL più alti misurati al terzo e al sesto mese di osservazione (ma non al dodicesimo) rispetto al basale.

All'inizio della terapia ART non è stata rilevata nessuna resistenza al trattamento, ma durante il follow-up il 5,8% delle pazienti aveva sviluppato resistenza nel plasma e il 4,4% nelle secrezioni genitali.

I livelli plasmatici di nevirapina non correlavano con segni di tossicità né epatica, né cutanea.

In questo studio prospettico è stata trovata un'associazione tra i polimorfismi a singolo nucleotide CYP2B6 516G>T e CYP2B6 983T>C e i livelli plasmatici di nevirapina, che, a loro volta, predicevano i cambi nel numero di linfociti CD4⁺ dopo l'inizio della ART a base di nevirapina. Il dato più interessante riguarda lo SNP CYP2B6 983T>C, che è presente nelle popolazioni africane con una frequenza del 4-11%. Per questa variante non sono stati trovati individui omozigoti mutati (CYP2B6 983 CC) e questo dato è stato confermato da studi condotti in precedenza. Tuttavia, gli individui eterozigoti (CYP2B6 983TC) mostravano livelli plasmatici di nevirapina più alti del 55% rispetto ai *wild type*. Inoltre, questo SNP è stato anche associato all'aumento delle cellule CD4⁺ dopo 12 mesi di trattamento.

Studi in vitro hanno dimostrato che la presenza di questa variante comporta uno stato di "null allele" che

comporta l'assenza totale della proteina. Questo potrebbe spiegare l'impatto che lo SNP ha esercitato sulla popolazione in studio, che è tanto più rilevante se si compara all'effetto dell'altra variante analizzata, CYP2B6 516G>T. In accordo con altri studi, gli autori hanno trovato che l'eterozigosità CYP2B6 983TC comporta una riduzione significativa della clearance della nevirapina.

Le concentrazioni aumentate di nevirapina si riflettevano in un recupero del numero di cellule CD4⁺, ma questo non si traduceva in una riduzione della carica virale. Gli autori suggeriscono che questo potrebbe dipendere dal fatto che la penetrazione del farmaco nei siti che fanno da riserva per il virus varia da genotipo a genotipo e quindi può essere influenzato oltre che dai polimorfismi analizzati, anche dalla presenza di altre varianti.

Questo studio ha delle limitazioni come la numerosità del campione e la durata del follow-up che, probabilmente, sono insufficienti a stimare l'influenza potenziale dei polimorfismi sugli effetti avversi, in particolare tossicità epatica e cutanea e sull'evenienza di resistenza plasmatica e/o genitale al trattamento farmacologico. Inoltre, anche un'aderenza alla terapia sub-ottimale avrà potuto influenzare i risultati. Infine, non sono state prese in considerazione le informazioni sullo stato nutrizionale delle pazienti reclutate e sulle terapie farmacologiche concomitanti che potrebbero aver interferito sia con la farmacodinamica sia con la farmacocinetica della nevirapina.

Questo studio ha mostrato un'associazione tra i polimorfismi CYP2B6 516G>T e 983T>C e i livelli aumentati di nevirapina nel plasma di donne di origine keniana HIV-1 positive.

Per la prima volta, è stata osservata un'associazione tra il genotipo eterozigote CYP2B6 983TC e l'aumento dei linfociti CD4⁺ durante la terapia ART a base di nevirapina in soggetti di origine Africana.

Parole chiave: nevirapina, CYP2B6, HIV-1, Kenya

Riferimento bibliografico

Oluka MN et al. AIDS Res Ther 2015, 12:10.

CARDIOVASCOLARE

EFFETTI DELLA VARIAZIONE A SINGOLO NUCLEOTIDE C.428G>A DELLA CARBOSSILESTERASI 1 SULLA FARMACOCINETICA DI QUINAPRIL ED ENALAPRIL

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), quinapril ed enalapril, sono ampiamente utilizzati nel trattamento dell'ipertensione e dell'insufficienza cardiaca congestizia. Entrambi sono profarmaci, esteri etilici, che sono rapidamente idrolizzati nel fegato a metaboliti attivi, quinaprilat e enalaprilat rispettivamente. Questi profarmaci sono inibitori relativamente deboli dell'ACE. Al contrario, i loro metaboliti attivi, quinaprilat e enalaprilat, sono potenti inibitori dell'ACE e, pertanto, impediscono la conversione dell'angiotensina I nel peptide vasoattivo angiotensina II; questi effetti sono mediati dal legame di entrambi all'ACE sia tissutale che plasmatica. La bioattivazione dei due profarmaci è catalizzata principalmente dalla carbossilesterasi 1 (CES1), un enzima $\alpha\beta$ -idrolasi, espressa in vari tessuti, come il fegato, i polmoni e il tessuto adiposo, ma non nel plasma. Nell'uomo, una singola variante nucleotidica (SNV) nel gene CES1 (NM_001025194.1: c.428G>A, p.G143E, rs71647871) è stata associata a ridotta attività in vitro dell'enzima e ad una ridotta biotrasformazione in vivo dei farmaci substrato di CES1, come il metilfenidato, oseltamivir e il clopidogrel. Studi precedenti in vitro, hanno mostrato che le SNVs di CES1 sono coinvolti anche nel metabolismo degli ACE-inibitori, come trandolapril e imidapril. Tuttavia, gli effetti nell'uomo delle varianti di CES1 sulla farmacocinetica degli ACE inibitori sono sconosciuti. Lo scopo del presente studio è di analizzare gli effetti della SNV CES1 c.428G>A sulla farmacocinetica di quinapril ed enalapril in uno studio prospettico di genotipizzazione di volontari sani.

Dopo aver ottenuto il consenso informato scritto, è stata effettuata la genotipizzazione di 1.109 giovani finlandesi volontari sani per la SNV CES1 c.428G>A con saggio TaqMan® su Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) o con Life Technologies QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). I risultati della genotipizzazione di CES1 sono stati pubblicati in precedenza per 860 partecipanti. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico di Coordinamento del Distretto Ospedaliero di Helsinki e Uusimaa (numero di registrazione 48/E0/07). Dei 1.109 individui genotipizzati, cinque donne e sette uomini con genotipo CES1 c.428G/G (media \pm SD, età 24 ± 5 anni, altezza 174 ± 7 centimetri, peso di 75 ± 12 kg e BMI 25 ± 4 kg/m²) e quattro donne e sei uomini con genotipo CES1 c.428G/A (età 26 ± 4 anni, altezza 177 ± 14 centimetri, peso di 70 ± 14 kg e BMI 21 ± 3 kg/m²) hanno partecipato ad uno studio di farmacocinetica, dopo aver dato il consenso informato scritto. Prima di inserirli nello studio, è stato verificato che tutti volontari fossero in buona salute all'anamnesi, all'esame obiettivo e agli esami di routine di laboratorio. Nessuno dei partecipanti ha utilizzato in modo continuo un qualunque farmaco, compresi anche i contraccettivi orali, e nessuno è stato un fumatore. Lo studio di farmacocinetica è stato approvato dal Comitato Etico di Coordinamento del Distretto Ospedaliero di Helsinki e Uusimaa (numero di registrazione 228/13/03/00/2012) e la finlandese Medicines Agency Fimea.

Disegno dello studio farmacocinetico. In uno studio incrociato ad ordine-fisso con due fasi, dopo un digiuno notturno, i partecipanti hanno ingerito una dose singola di 10 mg di quinapril (Accupro, Pfizer, Friburgo, Germania) e, dopo un periodo di *washout* di almeno una settimana, una dose singola di 10 mg di enalapril (Renitec, Merck Sharp & Dohme BV, Haarlem, Paesi Bassi) con 150 ml di acqua alle 8:00 del mattino. È stato servito un pasto caldo standardizzato a 4 ore ed un pasto leggero standardizzato tra le 7 e 10 ore dopo l'assunzione di quinapril ed enalapril. Sia la pressione del sangue, sistolica e diastolica, che la frequenza cardiaca sono state misurate due volte (nei calcoli è stato utilizzato il valore medio) dall'avambraccio con misuratore elettronico oscillometrico automatico della pressione arteriosa (Omron M6W, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Giappone), con i soggetti in posizione seduta, prima delle 4 e 12 ore dopo l'assunzione di quinapril ed enalapril. I campioni di sangue in EDTA (8 ml ciascuno) sono stati raccolti prima e fino ad un massimo di 24 ore dopo l'assunzione di quinapril e, prima e fino a 48 ore dopo l'assunzione di enalapril, per la determinazione delle concentrazioni di quinapril, quinaprilat, enalapril e di enalaprilat. Le urine sono state raccolte fino ad un massimo di 12 ore dopo l'ingestione dei due farmaci. È stato proibito l'uso di altri farmaci nella settimana prima e tre giorni dopo la somministrazione di quinapril ed enalapril. È stato vietato l'uso di alcol il giorno prima e nei giorni della somministrazione di quinapril ed enalapril e nei giorni successivi, per il prelievo di sangue. Le concentrazioni di farmaco sono state determinate utilizzando il sistema di cromatografia liquida Agilent 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) collegato ad uno spettrometro di massa tandem API 2000 (AB Sciex, Toronto, Ontario, Canada).

Farmacocinetica e farmacodinamica. Le farmacocinetiche di quinapril, quinaprilat, enalapril e enalaprilat sono state determinate attraverso il picco di concentrazione plasmatica (C_{max}), il tempo di C_{max} (T_{max}), l'emivita (t_{1/2}), l'area sotto la curva di concentrazione plasmatica-tempo da 0 all'infinito (AUC_{0-∞}), la quantità escreta nelle urine 0-12 ore (A_e) e la clearance renale (Cl_{renal}). I parametri farmacocinetici sono stati calcolati con metodi non compartimentali standard usando il software Phoenix WinNonlin, versione 6.3 (Certara, St. Louis, MO, USA). La farmacodinamica di quinapril e enalapril è stata descritta attraverso la pressione sanguigna sistolica e diastolica media e la frequenza cardiaca media, calcolate dividendo l'area sotto la curva effetto-tempo da 0-12 ore per 12 ore.

Analisi statistiche. I risultati sono espressi come medie geometriche con coefficienti geometrici di variazione (CV) e rapporti delle medie geometriche con intervalli di confidenza al 95% (IC) (parametri farmacocinetici, eccetto t_{max}), la media aritmetica con la deviazione standard (parametri farmacodinamici) o la mediana con il range (t_{max}) sia nel testo che nelle tabelle, e le medie geometriche con il 95% di IC nelle figure. I dati sono stati analizzati utilizzando il programma statistico IBM SPSS 19.0 per Windows (Chicago, IL, USA). L'AUC_{0-∞}, i valori di C_{max} e A_e sono stati aggiustati per 70 kg di peso corporeo. I parametri farmacocinetici (tranne la t_{max}) sono stati trasformati logaritmicamente prima dell'analisi. Le differenze nella farmacocinetica (tranne t_{max}) e nei parametri di farmacodinamica tra i genotipi sono state indagate mediante l'analisi della varianza. I valori T_{max} sono stati confrontati con il test U di Mann-Whitney. Le differenze sono state considerate statisticamente significative con P<0,05.

Effetto della SNV CES1 c.428G>A sul quinapril. Cmax, AUC0-∞, Ae e Clrenal del quinapril differivano di 3,4, 3,5, 4,4, e 6,0 volte tra tutti i soggetti, e quelli di quinaprilat variavano di 2,5, 3,5, 6,0 e 3,2 rispettivamente. Il genotipo CES1 c.428G>A non ha mostrato alcun effetto significativo sui parametri farmacocinetici e farmacodinamici di quinapril. La media geometrica del rapporto AUC0-∞ (CV) di quinaprilat/quinapril è risultata 7,9 (0,38) nei soggetti con genotipo CES1 c.428G/G e 6,8 (0,47) in quelli con genotipo c.428G/A. Il sesso non ha avuto effetto significativi sui parametri farmacocinetici di quinapril.

Effetto della SNV CES1 c.428G>A su enalapril. La Cmax, AUC0-∞, Ae e Clrenal di enalapril differivano di 2,7, 2,8, 4,6 e 2,5 volte tra tutti i soggetti, e quelli di enalaprilat di 5,1, 2,7, 5,2 e 2,6 volte rispettivamente. L'AUC0-∞ di enalaprilat è risultata inferiore del 20% nei soggetti con genotipo CES1 c.428G/A rispetto a quelli con genotipo c.428G/G (P=0.049). Pertanto, Ae di enalaprilat risultava minore del 35% nei soggetti con genotipo CES1 c.428G/A rispetto a quelli con genotipo c.428G/G (P = 0,044). La media geometrica del rapporto AUC0-∞ (CV) enalaprilat/enalapril è risultata di 2,7 (0,41) nei soggetti con genotipo CES1 c.428G/G e 2,4 (0,38) in quelli con c. 428G/A, ma la differenza non era statisticamente significativa. Inoltre, il genotipo CES1 non ha mostrato alcun effetto su qualsiasi altro parametro di farmacocinetica o farmacodinamica di enalapril, così come il sesso.

In questo studio, i valori di P non sono stati aggiustati per confronti multipli, in quanto tutti i confronti statistici sono stati definiti a priori. Dato che sono stati utilizzati un numero considerevole di test statistici, bisogna tenere presente il rischio di un risultato falso positivo. In ogni caso, visto che l'effetto del genotipo CES1 c.428G/A sulla farmacocinetica di enalapril è risultato relativamente piccolo, è improbabile che possa avere un impatto clinicamente significativo sull'efficacia del farmaco. La SNV CES1 c.428G>A è relativamente rara, le popolazioni Caucasiche e Afro-Americane presentano il 4-8% di eterozigoti e 0,04-0,16% di omozigoti per questa variante. In conclusione nell'uomo, la SNV CES1 c.428G>A riduce significativamente l'idrolisi di enalapril a enalaprilat attivo ma non ha alcun effetto visibile sull'idrolisi del quinapril. Questo suggerisce una differente risposta degli ACE-inibitori nei confronti degli effetti della SNV CES1 c.428G>A. Sono necessari ulteriori studi per chiarire gli effetti delle varianti genetiche di CES1 sulla farmacocinetica di altri ACE-inibitori.

In questo studio è presentata l'influenza significativa di SNV CES1 c.428G>A sulla farmacocinetica di enalapril ma non sul quinapril. Questo è il primo studio nell'uomo che dimostra una possibile influenza delle varianti genetiche di CES1 sulla farmacocinetica di un ACE-inibitore in vivo ed una differente risposta a queste varianti di questi farmaci.

Parole chiave: enalapril, quinapril, farmacogenetica, carbossilesterasi, CES1, rs71647871

Riferimento bibliografico

Tarkiainen EK et al. Br J Clin Pharmacol 2015 Apr 28 [Epub ahead of print].

NEUROLOGIA

POLIMORFISMI DEL GENE TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA DI TIPO 1 MODIFICANO LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO NELLA MALATTIA DI PARKINSON

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La malattia di Parkinson colpisce più dell'1% della popolazione al di sopra dei 60 anni, e la ridotta produzione di dopamina nello striato risulta essere il *marker* principale della patologia. Dalla sua introduzione nel 1969, la L-DOPA rimane il trattamento più efficace, anche se con un'ampia variabilità intra ed inter-individuale. Inoltre, non sono ancora definite linee guida per la determinazione dei livelli ottimali di L-DOPA in un determinato paziente. Una migliore conoscenza dei fattori farmacogenetici coinvolti nella

neurotrasmissione dopaminergica potrebbe consentire di adeguare le dosi di L-DOPA ed evitare le complicanze motorie del trattamento. La stimolazione cerebrale profonda del nucleo subtalamico rappresenta in alcuni pazienti il trattamento principale delle complicanze motorie da L-DOPA (Krack P et al. *N Engl J Med* 2003, 349:1925–34). Recentemente è stato dimostrato che la somministrazione cronica di alte dosi di metilfenidato, inibitore del SLC6A3, riduce la severità dei disturbi motori nei pazienti con malattia avanzata (Moreau C, et al. *Lancet Neurol* 2012, 11:589–96). Fattori farmacogenetici, in particolare correlati al gene del SLC6A3, potrebbero in parte spiegare l'eterogeneità della risposta al metilfenidato. Pertanto, gli autori hanno deciso di valutare i polimorfismi genetici noti per avere un impatto funzionale sul metabolismo della dopamina. Il gene *SLC6A3* è caratterizzato da alleli ripetuti, di cui i 9 e 10 sono i più frequenti nei pazienti con malattia di Parkinson (Vandenberg DJ et al. *Genomics* 1992, 14:1104–6; Uhl GR. *Mov Disord* 2003, 18(Suppl 7): S71–80). È stata inoltre selezionata un'altra variante genetica funzionale frequente, ovvero l'introne 8 *variable number tandem repeat* (rs3836790, Int8 VNTR). Inoltre sono stati considerati altri fattori genetici che potrebbero influenzare il metabolismo della dopamina, quali il gene *DDC* della decarbossilasi degli L-aminoacidi aromatici, il gene *COMT* della catecol-O-metiltransferasi ed il gene della monoamino ossidasi B (*MAOB*).

L'analisi farmacogenetica è stata programmata ed eseguita come parte di uno studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo sull'uso di metilfenidato in pazienti con malattia di Parkinson. Sono stati arruolati prospettivamente pazienti al di sotto degli 80 anni con malattia di Parkinson, stimolazione del nucleo subtalamico e disturbi del movimento lievi-moderati, ovvero ipocinesia e *freezing* in fase OFF con *score Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (UPDRS) ≥ 2 , e *score* di andatura ≥ 2 nella fase ON. Criteri di esclusione erano la presenza di disturbi dell'andatura associati con la stimolazione del nucleo subtalamico, cambiamenti nei parametri di stimolazione del nucleo subtalamico o nella terapia dopaminergica nei 90 giorni precedenti lo studio o durante lo studio, l'incapacità a camminare senza assistenza ambulatoriale continua nonostante il trattamento, la presenza di demenza, disturbi psichiatrici, altre patologie serie o non stabilizzate, trattamento in corso con simpaticomimetici, inibitori delle monoamino-ossidasi o oppiacei. I pazienti hanno ricevuto placebo o metilfenidato al dosaggio di 1 mg/kg/die, e una valutazione della tollerabilità e della *compliance* è stata eseguita ogni due settimane. È stata valutata l'associazione tra le varianti *SLC6A3* rs3836790 (VNTR nell'introne 8), *SLC6A3* rs28363170 (VNTR al 3'UTR), *DDC* rs921451 (T>C), *DDC* rs3837091 (insdel AGAG), *COMT* rs4680 (Val158Met), e *MAOB* rs1799836 e la risposta motoria alla L-DOPA (misurata come differenza tra gli *score* OFF ed ON durante la somministrazione acuta di L-DOPA al basale). Inoltre, è stata valutata l'associazione tra questi polimorfismi e la risposta al metilfenidato in termini di cambiamenti dei criteri motori e di andatura dopo 90 giorni dall'inizio della terapia in entrambe le condizioni OFF ed ON e rispetto al gruppo placebo.

Tra il 15 ottobre 2009 ed il 16 dicembre 2011, sono stati arruolati 69 pazienti con malattia di Parkinson, con disturbi severi dell'andatura e *freezing* nonostante l'ottimizzazione del trattamento con L-DOPA e la stimolazione del nucleo subtalamico. La genotipizzazione è stata eseguita per 61 pazienti. I pazienti del gruppo placebo e del gruppo trattato con metilfenidato sono stati ben bilanciati in termini di caratteristiche basali. La dose giornaliera media di L-DOPA era di 710 ± 90.8 mg/die nel gruppo metilfenidato e 720 ± 100 mg/die nel gruppo placebo. Non è stata osservata un'influenza del genotipo *SLC6A3* o di altri genotipi sull'efficacia della stimolazione del nucleo subtalamico, sulla riduzione del dosaggio di L-DOPA durante la stimolazione (valutazione dopo un anno dall'impianto dell'elettrodo), o sui parametri di stimolazione.

Solo le varianti *SLC6A3* rs3836790 (VNTR nell'introne 8) ed *SLC6A3* rs28363170 (VNTR al 3'UTR) sono state associate con la risposta alla L-DOPA ($P=0.0003$), in particolare gli aplotipi maggiori 6/10 e 5/9. Dopo aggiustamento per età, sesso, peso, durata della malattia e dose giornaliera equivalente di L-DOPA, l'associazione è rimasta statisticamente significativa ($P=0.0004$). Inoltre, la variante *SLC6A3* rs3836790 è risultata associata al numero di *freezing* ($P=0.0132$), anche dopo aggiustamento per età, sesso, peso, dose di L-DOPA e durata della malattia. L'analisi della covarianza aggiustata per il valore basale ha rivelato un'associazione significativa tra il genotipo *SLC6A3* rs3836790 ed il miglioramento dei sintomi motori e dell'andatura in fase ON dopo trattamento con metilfenidato, ma non nella fase OFF (tranne che per il tempo di esecuzione). L'associazione è rimasta statisticamente significativa anche dopo aggiustamento per età, sesso, peso, durata di malattia e dose di L-DOPA.

Questo studio mostra per la prima volta come alcuni genotipi del gene *SLC6A3* possano essere associati con differenze nella risposta acuta alla L-DOPA e nella risposta cronica al metilfenidato in pazienti con malattia

di Parkinson. È stata infatti evidenziata una differenza media significativa nello *score* UPDRS dei pazienti portatori del genotipo associato con una migliore risposta alla L-DOPA (genotipo 6/6 del *SLC6A3* rs3836790) e quello dei pazienti con genotipo associato ad un effetto minore (genotipo 5/6 o 5/5 del *SLC6A3* rs3836790), indipendentemente da età, sesso, dose di L-DOPA e altri genotipi coinvolti nel metabolismo della dopamina e dell'L-DOPA. Esistono invece molti studi riguardo l'associazione tra il gene *SLC6A3* e disturbi psichiatrici, dell'effetto di queste varianti sulla malattia di Parkinson o sull'insorgenza di complicanze dopaminergiche (allucinazioni, discinesia, depressione). Solo uno studio ha considerato l'associazione tra le varianti *SLC6A3* e la risposta alla somministrazione acuta di L-DOPA, senza tuttavia trovare correlazione (Contin M et al. *Clin Neuropharmacol* 2004, 27:111–5). I risultati di questo studio, invece, suggeriscono l'associazione tra i genotipi *SLC6A3* e la risposta alla L-DOPA. L'*SLC6A3* rappresenta il più potente determinante del metabolismo della dopamina nello striato (Gainetdinov RR et al. *Brain Res Brain Res Rev* 1998, 26:148–53). Alcuni studi hanno dimostrato che i portatori di varianti 6/6 del *SLC6A3* rs3836790 o 10/10 del *SLC6A3* rs28363170 presentavano livelli basali di espressione dei trasportatori della dopamina più elevati rispetto ai portatori di altri genotipi (5/5 o 5/6 del *SLC6A3* rs3836790 e 9/9 o 9/10 del *SLC6A3* rs28363170), con conseguenti livelli sinaptici più bassi per un più elevato *reuptake* (Fuke et al., 2001; VanNess et al., 2005; Dreher et al., 2009; Forbes et al., 2009). È possibile supporre che la somministrazione esogena di L-DOPA risulti più efficace nei pazienti con le varianti 6/6 e 10/10, poiché un più alto numero di trasportatori nello striato potrebbe ridurre i livelli extracellulari di dopamina, risultando in un beneficio clinico. Inoltre, il beneficio maggiore per gli stessi genotipi in termini di risposta al metilfenidato sembra essere legato al più alto livello di inibizione del trasportatore *SLC6A3*.

In conclusione, i pazienti portatori delle varianti *SLC6A3* rs3836790 e *SLC6A3* rs28363170 potrebbero trarre più benefici dal trattamento con L-DOPA e richiedere un dosaggio più basso e più lunghi intervalli fra le dosi. Inoltre, i portatori di queste varianti potrebbero ottenere maggiori benefici dal trattamento con metilfenidato.

Limite principale dello studio: utilizzo di una dose di L-DOPA equivalente al 150% della dose standard, scelta per ottenere il miglior stato motorio possibile.

Parole chiave: malattia di Parkinson, L-DOPA, metilfenidato, *SLC6A3*

Riferimenti bibliografici

Moreau C et al. *Brain* 2015 Mar 23 [Epub ahead of print]

ASSOCIAZIONE DI VARIANTI GENOTIPICHE E ALOTIPICHE DEL GENE *DRD2* CON IL MIGLIORAMENTO DEI SINTOMI NEGATIVI DOPO 6 SETTIMANE DI TRATTAMENTO CON AMISULPRIDE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'amisulpride è un antipsicotico atipico, antagonista dei recettori dopaminergici D2/D3, che ha dimostrato un'efficacia superiore nel trattamento dei sintomi negativi rispetto a placebo e antipsicotici di prima generazione. Tuttavia, esistono significative differenze interindividuali nella risposta clinica e nello sviluppo di reazioni avverse in seguito al trattamento. Il gene *Dopamine receptor D2 (DRD2)* è uno dei target più promettenti tra quelli che potrebbero influenzare la risposta al trattamento con antipsicotici, dal momento che la potenza clinica di questi farmaci è strettamente correlata alla loro affinità di legame al recettore *DRD2*. Tra i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del gene *DRD2* maggiormente studiati vi sono rs1079597 (TaqIB) e rs1800497 (TaqIA). Rs1079597 è localizzato nel primo introne del gene *DRD2*. L'allele C è stato associato con una ridotta densità di recettori *DRD2* nello striato e l'allele T con risposta positiva alla clozapina in una popolazione africana. Rs1800497 si trova a una distanza di 10 kb dal gene *DRD2* e una decina di anni fa è stato mappato a livello del gene *ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1)*. Nonostante numerosi studi abbiano valutato l'associazione di questo SNP con la risposta agli antipsicotici, i risultati sono inconsistenti. Sulla base della considerazione che l'amisulpride esercita

un'attività di blocco maggiormente selettiva sui recettori dopaminergici, gli autori dello studio hanno valutato l'associazione dei due SNP con la risposta al farmaco in un campione di pazienti coreani.

Lo studio ha incluso 125 pazienti schizofrenici coreani (età: 18-65 anni) reclutati presso sei ospedali universitari. Tutti i pazienti avevano una diagnosi di schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV e un punteggio di 4 o superiore sulla *Clinical Global Impression-Severity Scale* (CGI-S). I criteri di esclusione comprendevano: 1) trattamento con clozapina nel mese precedente, 2) schizofrenia refrattaria trattata con due o più antipsicotici, 3) ideazione suicidaria o aggressività, 4) psicosi di gravità tale da impedire la possibilità di seguire il protocollo dello studio, 5) gravidanza o allattamento, 6) disordine neurologico o severo grave, 7) storia di reazioni allergiche o reazioni avverse gravi a farmaci. La severità dei sintomi è stata misurata utilizzando la *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANNS) e la CGI-S. È stata considerata come risposta positiva al trattamento una riduzione di almeno il 30% dei sintomi dopo 6 settimane di trattamento con amisulpride rispetto al baseline. I pazienti che all'inizio del trattamento hanno fatto uno *switch* da altri antipsicotici ad amisulpride sono stati sottoposti a tre giorni di *washout* prima della somministrazione dell'amisulpride. Durante le 6 settimane ai pazienti non sono stati somministrati altri antipsicotici, stabilizzanti dell'umore, antidepressivi o psicostimolanti, mentre la somministrazione di benzodiazepine, ipnotici e anticolinergici è stata permessa quando giudicata strettamente necessaria.

I polimorfismi sono stati genotipizzati con metodo TaqMan ed è stato considerato significativo un p-value < 0.025 dopo correzione di Bonferroni. Per lo SNP rs1079597, le frequenze alleliche ($p = 0.017$) e le frequenze genotipiche secondo il modello recessivo ($p = 0.023$) differivano in maniera significativa tra *responder* e *non responder* sulla base della valutazione dei sintomi negativi secondo la scala PANNS. Nello specifico, l'allele C è risultato associato con il miglioramento dei sintomi negativi, ma non con il miglioramento dei sintomi positivi sulla base delle scale PANNS e CGI-S. Inoltre, lo SNP rs1800497 non è risultato associato alla risposta al farmaco. Gli aplotipi T-C e C-C (rs1079597- rs1800497) sono risultati associati in maniera significativa al miglioramento dei sintomi negativi sulla base della scala PANNS (T-C: p corretto = 0.014; C-C: p corretto = 0.045).

Lo studio riporta un'associazione tra l'allele C dello SNP rs1079597 e il miglioramento dei sintomi negativi dopo trattamento con amisulpride in un campione di pazienti coreani. In precedenza, era stata riportata un'associazione tra l'allele T dello stesso SNP e la risposta positiva alla clozapina in una popolazione africana. Gli autori ipotizzano come ragioni della discrepanza le diverse frequenze alleliche nelle due popolazioni, il tipo di antipsicotico utilizzato e i diversi score per la valutazione della risposta. Tra i limiti dello studio vi sono la numerosità del campione, la scelta di non applicare in maniera stringente la correzione di Bonferroni per test multipli e quella di genotipizzare soltanto due SNPs del gene DRD2.

In conclusione, i risultati dello studio suggeriscono l'associazione dello SNP rs1079597 e degli aplotipi T-C e C-C (rs1079597- rs1800497) del gene DRD2 con il miglioramento dei sintomi negativi dopo sei settimane di trattamento con amisulpride.

Parole chiave: amisulpride, schizofrenia, DRD2

Riferimento bibliografico

Kang SG et al. *J Clin Psychopharmacol* 2015, 35:158-62.

ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI NEI GENI LEPR E ANKK1 CON L'AUMENTO DI PESO IN PAZIENTI AFFETTI DA EPILESSIA IN TRATTAMENTO CON ACIDO VALPROICO

A cura della Dott.ssa Valentina Manzo

L'acido valproico (VPA) è ampiamente utilizzato nella terapia delle diverse forme di epilessia, sia generalizzata che parziale, nel trattamento dei disturbi bipolari e nella profilassi dell'emigrania. L'aumento di peso è l'effetto avverso più frequente nei pazienti trattati con VPA ed è la causa più comune d'interruzione della terapia. Tuttavia, i meccanismi alla base di tale effetto non sono stati ancora chiariti. Diversi studi hanno mostrato che in alcuni pazienti trattati con VPA l'aumento del peso correlava con alti livelli sierici di insulina. Inoltre, le variabilità nella frequenza e nell'entità (fino all'assenza), osservate nei

gemelli omozigoti, hanno contribuito a ipotizzare un coinvolgimento meccanicistico di fattori genetici nel determinare l'aumento di peso associato alla terapia con acido valproico. E' molto probabile che il contributo genetico alla determinazione di tale effetto sia multifattoriale. Lo scopo di questo studio è stato ricercare l'eventuale associazione tra varianti polimorfiche presenti in geni coinvolti nella regolazione dell'appetito e nell'omeostasi energetica e l'aumento di peso corporeo in una coorte di pazienti cinesi affetti da epilessia in terapia con VPA. Inoltre, è stata investigata anche l'associazione tra le concentrazioni plasmatiche di VPA e l'aumento del peso indotto dal farmaco.

Sono stati arruolati 212 pazienti epilettici (126 maschi e 86 femmine), con un'età media di 24.9 ± 10.0 anni, presso il Dipartimento di Neurologia dell'Ospedale Universitario *Sun Yat-sen* in Cina. Di questi, 121 hanno assunto VPA in regime di monoterapia, 91, invece, VPA in associazione a lamotrigina (LTG, n=72), carbamazepina (CBZ, n=12) o oxcarbazepina (OXC, n=7). Le associazioni con questi farmaci sono state ammesse nello studio in quanto non influenzanti il peso corporeo. La dose giornaliera di farmaco assunta è stata pari a 200-1250 mg e tale dosaggio è stato mantenuto stabile per almeno un mese di terapia. Dopo 1, 3 e 6 mesi di trattamento continuo, sono stati prelevati 2mL di sangue per la valutazione della concentrazione plasmatica di VPA. Per ogni paziente, all'inizio della terapia e a ogni visita medica a cadenza mensile, sono stati registrati l'altezza e il peso per determinare l'indice di massa corporea (BMI). Un aumento di peso del 7% è stato ritenuto come statisticamente significativo. Pazienti in gravidanza, con gravi ferite alla testa, con disturbi della personalità o affetti da patologie, quali epatite C, HIV, tiroiditi, diabete mellito o ritardo mentale sono stati esclusi dallo studio. La concentrazione plasmatica di VPA è stata determinata mediante HPLC accoppiata a rilevatore a UV. Il DNA è stato estratto da sangue periferico e i polimorfismi sono stati analizzati utilizzando la piattaforma Sequenom MassArray (*Sequenom, CA-USA*). Sono stati analizzati i seguenti SNPs: rs16147, rs3037354 (NPY); rs17782313, rs489693, rs8087522 (MC4R); rs10954173, rs3828942 (LEP); rs1137101, rs1327120 (LEPR); rs6265, rs1519480 (BDNF); rs9939609 (FTO); rs1800497 (ANKK1); rs1079598 (DRD2); rs10789038 (PRKAA2); rs3766522 (PRKAB2); rs692243 (PRKAG3); rs1801133 (MTHFR) e rs3813929 (HTR_{2C}).

Dopo 6 mesi di trattamento è stata misurata in ciascun campione la concentrazione plasmatica di acido valproico e nel 20,28% dei pazienti sono state evidenziate delle variazioni del BMI, sebbene non vi fosse un'associazione statisticamente significativa tra le concentrazioni di farmaco e i valori di peso registrati.

Le frequenze alleliche dei 19 geni analizzati sono risultate in equilibrio di Hardy-Weinberg, eccetto quella dello SNP rs3813929 nel gene HTR_{2C}. I risultati hanno mostrato che i polimorfismi dei geni LEPR (rs1137101), ANKK1 (rs1800497) e PRKAA2 (rs10789038) si associano ad una variazione del BMI dopo 6 mesi di trattamento con VPA ($p < 0.001$, $p = 0.017$ e $p = 0.020$, rispettivamente). Tuttavia, dall'applicazione del test di Bonferroni è emerso che solo gli SNPs nei geni LEPR e ANKK1 sono realmente associati all'aumento di peso. In particolare, i pazienti omozigoti ed eterozigoti per l'allele A del polimorfismo rs113701-LEPR hanno mostrato un aumento di peso maggiore rispetto ai soggetti con genotipo GG (AA vs AG + GG, $p < 0.001$). Allo stesso modo, nei pazienti omozigoti ed eterozigoti per l'allele C dello SNP rs1800497-ANKK1 si è riscontrato un aumento significativo di BMI rispetto a quelli con genotipo TT (CC+CT vs TT, $p = 0.0021$).

L'associazione tra la presenza dell'allele A dell'rs1137101-LEPR e l'aumento di BMI è stata descritta anche in altri studi presenti in letteratura, in cui era stata osservata una correlazione tra aumento di peso e sindrome metabolica in pazienti schizofrenici in trattamento con antipsicotici. Al contrario, Yiannakouris e Gregoor (Yiannakouris N et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2001,86:4434-39; Gregoor JG et al. *Pharmacogenomics* 2011,12:919-23), hanno evidenziato che l'allele A è associato ad un minore rischio di obesità, pertanto sarebbero necessarie ulteriori ricerche per comprendere la vera funzione di questo SNP. In questo studio è stato dimostrato che anche la presenza dell'allele C del polimorfismo rs1800497-ANKK1 contribuiva alla variazione dell'indice di massa corporea nei pazienti arruolati. I geni ANKK1 e DRD2, codificanti rispettivamente per una chinasi contenente un dominio con ripetizioni di anchirine e per il recettore della dopamina, influenzano i circuiti di reward dopamina-dipendenti e regolano la trasmissione dei segnali di controllo dell'appetito; di conseguenza, varianti polimorfiche in tali geni stimolano la sensazione di fame promuovendo il rischio di obesità. Secondo gli autori, il polimorfismo rs1800497-ANKK1 sarebbe responsabile dell'aumento di peso indotto da VPA, tuttavia tale dato è in contrasto con altri risultati presenti in letteratura.

In conclusione, in questo studio è stata osservata l'associazione tra alcuni polimorfismi presenti nei geni LEPR e ANKK1, coinvolti nella regolazione dell'appetito e nell'omeostasi energetica, e l'aumento di peso corporeo in una coorte di pazienti cinesi affetti da epilessia in terapia con acido valproico.

A causa della complessità del fenotipo studiato e per la scarsa numerosità del campione preso in esame, sono necessari *ulteriori studi in coorti di pazienti più numerose e di diversa etnia per confermare i risultati* ottenuti in questo lavoro. A ogni modo, l'analisi dei polimorfismi potrebbe aiutare a predire la risposta del paziente alla terapia con acido valproico e, soprattutto, a ridurre la comparsa di eventi avversi.

Parole chiave: acido valproico, aumento di peso, LEPR, ANKK1

Riferimento bibliografico

Hi L et al. *Int J Neuropsychopharmacol* 2015 Mar 3 [Epub ahead of print].

ASSOCIAZIONE DEL GENOTIPO rs1051730 CON ADESIONE E CONSUMO DI NICOTINA IN CORSO DI TERAPIA SOSTITUTIVA DURANTE UN PROGRAMMA DI CESSAZIONE DEL FUMO

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

La terapia sostitutiva con nicotina (*nicotine replacement therapy*, NRT) è un efficace trattamento farmacologico per la cessazione del fumo di sigaretta. L'aderenza e il consumo in corso di NRT influenzano l'efficacia di questa terapia. Molti fattori sono responsabili delle differenze nell'aderenza e nel consumo della NRT, tra cui anche fattori genetici. Un locus genetico rilevante per i comportamenti legati al fumo è localizzato all'interno del gene del recettore nicotinico per l'acetilcolina *CHRNA5-A3-B4* sul cromosoma 15. Le varianti rs1051730 in *CHRNA3* e rs16969968 in *CHRNA5* sono fortemente associate alla dipendenza da nicotina, alle valutazioni soggettive ed oggettive della quantità di sigarette fumate e a molte patologie correlate al fumo; l'allele minore conferisce un rischio aumentato. Lo scopo del presente studio pertanto è di investigare l'impatto del genotipo rs1051730 sull'aderenza e il consumo nella NRT, prescritta all'interno di un programma di cessazione del fumo.

Il disegno dello studio consiste nell'analisi secondaria di dati provenienti da un trial randomizzato controllato. I partecipanti erano fumatori adulti che avevano consumato almeno 10 sigarette al giorno nel corso dei 12 mesi precedenti ed erano motivati a smettere di fumare. I criteri di esclusione includevano la controindicazione all'uso di NRT, precedenti gravi reazioni avverse alla NRT, uso contemporaneo di farmaci per smettere di fumare o di farmaci per altre indicazioni noti per influenzare la cessazione del fumo (per es. nortriptilina). A tutti i partecipanti è stato offerto un supporto comportamentale ed una prescrizione di NRT. La NRT consisteva in un *patch* di nicotina, la potenza del quale era basata sul consumo di sigarette quotidiane dei partecipanti (10-14 sigarette al giorno = 14 mg; ≥ 15 sigarette al giorno = 21 mg). Inoltre, ai partecipanti è stata anche prescritta nicotina in una seconda formulazione (gomma, compresse, tavolette sublinguali o inalatore) che rilasciava 6 o 12 mg di nicotina. Ai partecipanti è stato richiesto di assumere la loro NRT come prescritto per quattro settimane dalla data del tentativo di cessazione del fumo e di partecipare ogni settimana alle sessioni cliniche, durante le quali è stata controllata l'aderenza alla NRT e somministrate le successive prescrizioni.

La genotipizzazione di rs1051730 è stata condotta con *competitive allele-specific PCR KASPar chemistry* (LGC, Hertfordshire, UK) implementato su una piattaforma ABI7900HT (Applied Biosystems, Foster City, USA). L'aderenza alla prescrizione di NRT è stata definita come la proporzione (%), su tutte le NRT prescritte, che sono state consumate in ciascun giorno (media calcolata su 7 e 28 giorni dopo la data di cessazione del fumo) ed è stata valutata durante le visite settimanali. Il consumo giornaliero di NRT è stato definito come la dose di nicotina consumata in ciascun giorno (mg) - media di un periodo di 7 e 28 giorni dalla data di cessazione del fumo - calcolata usando la dose totale giornaliera prescritta (cioè 20, 26, 27 or 33 mg) e il relativo tasso di adesione. All'interno dei 633 soggetti che erano stati randomizzati nel trial

completo, il presente studio è stato condotto solo sui soggetti di ascendenza Europea con tasso di adesione alla prescrizione della NRT > 0% a 7 giorni. Il campione risultante finale era di 448 partecipanti.

Un'associazione tra il genotipo rs1051730 e l'aderenza alla prescrizione di NRT è stata osservata a 7 giorni dalla data del tentativo di cessazione del fumo. Ciascuna copia dell'allele minore corrispondeva ad una riduzione del 2.9% dell'aderenza alla dose di NRT prescritta in questo periodo (95% CI da -5.6% a -0.1%, $p=0.044$). Nessuna associazione tra il genotipo e l'aderenza è stata osservata a 28 giorni dalla cessazione del fumo. Un'associazione tra il genotipo rs1051730 e la media giornaliera del consumo di NRT è stata osservata a 7 giorni dalla data del tentativo di cessazione del fumo. Ciascuna copia dell'allele minore corrispondeva ad una riduzione di 1 mg, nella media giornaliera, di consumo di NRT in questo periodo (95% CI da -1.8 mg a -0.1 mg, $p=0.026$). Nessuna associazione tra il genotipo e il consumo di NRT è stata osservata a 28 giorni. Non è stata rilevata alcuna associazione tra il genotipo rs1051730 e la probabilità di astinenza a 7 o a 28 giorni.

Questo è il primo studio che esplora l'associazione del genotipo rs1051730 con il consumo e l'aderenza alla NRT durante un programma di cessazione del fumo. Un precedente studio ha dimostrato una forte associazione tra rs1051730 e le misure della quantità di fumo, l'allele minore essendo associato a maggiori indici di consumo di sigarette. Si può quindi ipotizzare che l'allele minore sia associato ad un'aumentata aderenza e consumo di NRT, in uno sforzo di raggiungere un'adeguata dose di nicotina per alleviare l'astinenza. Tuttavia, l'associazione osservata nel presente studio tra il genotipo e aderenza/consumo a 7 giorni va nella direzione opposta. Una possibile spiegazione per questo effetto risiede nel fatto che i portatori dell'allele minore rs1051730 sono stati più propensi ad abbandonare il trattamento prima della fine del programma. Questa ipotesi è supportata anche da un precedente studio di NRT *open-label* in cui si è osservato che l'allele minore è associato ad una ridotta probabilità di successo di smettere di fumare. Il presente studio ha due limitazioni: il consumo e l'aderenza al NRT sono stati determinati dai diari dei partecipanti e dai conteggi dei farmaci rimanenti nel corso delle sessioni cliniche. I livelli di nicotina avrebbero fornito una valutazione più precisa ed oggettiva di questi risultati. Secondo, il campione era troppo piccolo per uno studio genetico di associazione, per cui questi risultati devono essere considerati preliminari.

In conclusione, il presente studio dimostra una significativa associazione tra il polimorfismo *CHRNA3* rs1051730 e l'aderenza/consumo nella terapia sostitutiva con nicotina a 7 giorni.

Parole chiave: fumo, cessazione, genetica, terapia sostitutiva con nicotina

Riferimento bibliografico

Ware JJ et al. *Drug Alcohol Depend* 2015 Apr 10.

LA METANALISI DEL MESE

INFLUENZA DEI POLIMORFISMI DI ABCB1 SULL'EFFICACIA DELLA TERAPIA STANDARD NELLA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA: REVISIONE SISTEMATICA E METANALISI DEGLI STUDI OSSERVAZIONALI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

La leucemia mieloide acuta (AML) è principalmente trattata con combinazioni di citabarina e antraciclina che determinano un tasso di remissione completa del 70-80%, malgrado in circa il 60% dei casi vada incontro a recidiva per scarsa efficacia della chemioterapia nell'eliminare la malattia minima residua. La prognosi in molti casi rimane severa, con rischio di morte per farmaco-resistenza intrinseca delle cellule AML o di ricaduta dovuta a farmaco-resistenza acquisita. Il gene MDR1, noto anche come ABCB1, codifica per la glicoproteina-P (P-gp), una glicoproteina di membrana responsabile dell'estrusione cellulare attraverso la membrana plasmatica di una varietà di xenobiotici e farmaci, tra cui l'antraciclina. I tre polimorfismi più

frequenti del gene ABCB1 nella popolazione caucasica sono gli SNP sinonimi 1236C>T (rs1128503) nell'esone 12 e 3435C>T (rs1045612) nell'esone 26, e lo SNP non-sinonimo 2677G>T/A (rs2032581) nell'esone 21 che comporta una sostituzione amminoacidica Ser893Ala o Ser893Thr. I polimorfismi dei geni ABC, influenzando i livelli di espressione o la funzione di questi trasportatori, possono essere associati alla tossicità e alla sopravvivenza dei pazienti AML a causa della diminuzione della capacità di efflusso sia delle cellule germinali che di quelle tumorali. Molti degli studi finora condotti sull'argomento sono inconclusivi e le meta-analisi finora pubblicate non hanno considerato i tassi di sopravvivenza. Gli Autori di questo studio hanno condotto una revisione sistematica e meta-analisi degli studi disponibili allo scopo di stimare l'effetto dei polimorfismi di ABCB1 (1236C>T, 3435C>T o 2677G>T/A) sulla sopravvivenza globale (OS) e sulla remissione completa (CR) in pazienti con AML trattati con combinazioni di citarabina e antraciclina.

Gli autori hanno utilizzato i seguenti termini per la ricerca bibliografica nei registri e nei database elettronici: leucemia mieloide acuta, citarabina o idarubicina o fludarabina, ABCB1 o MDR1 o P-gp, polimorfismi o SNP, efficacia o OS, tossicità o reazione avversa. Gli studi inclusi nella meta-analisi dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione: (i) essere studi *in vivo*; (ii) essere studi con pazienti con AML in chemioterapia standard (citarabina e idarubicina o altre antracicline, più fludarabina in caso di ricaduta); (iii) riportare la frequenza genotipica dei polimorfismi di ABCB1 1236C>T, 3435C>T, o 2677G>T/A; (iv) valutare l'associazione tra i polimorfismi di ABCB1 e l'efficacia o la tossicità delle chemioterapia. Sono stati esclusi dalla meta-analisi gli studi con zero eventi totali o che includevano pazienti con leucemia promielocitica per via dei differenti regimi terapeutici utilizzati. La meta-analisi è stata effettuata mediante l'utilizzo del modello a effetti fissi *ponderato per il metodo di Mantel-Haenszel*. In presenza di eterogeneità tra gli studi, le analisi sono state ripetute utilizzando il modello ad effetti casuali.

Dopo analisi della letteratura sono stati identificate 963 citazioni da database elettronici e 17 da altre fonti. Di queste, 40 sono state selezionate per la validazione e soltanto 7 hanno soddisfatto i criteri di inclusione. Sono stati analizzati quindi 7 studi di coorte (1241 pazienti totali) ([Gréen et al. 2012](#), [Hampras et al. 2010](#), [Hur et al. 2008](#), [Illmer et al. 2002](#), [Kim et al. 2006](#), [Scheiner et al. 2012](#), [van der Holt et al. 2006](#)), con un'età media di 60.2 anni, una percentuale di sesso maschile del 56.6%, ed una predominanza per il gruppo etnico caucasico (70.8%). Inoltre, 92.3% dei pazienti erano pazienti con AML de novo e 7.7% con AML secondaria.

OS per 1236C>T

Cinque studi analizzavano l'OS per il polimorfismo 1236C>T (925 pazienti). I risultati della analisi aggregata mostrano che i portatori dell'allele T presentano un'umentata OS (OR: 1.47, 95% CI: 1.07-2.01, I²: 62%), tuttavia c'è evidenza di eterogeneità tra gli studi. Nell'analisi di sensitività *post-hoc*, dopo esclusione dello studio di [Scheiner e colleghi](#) a causa dei risultati divergenti, la nuova stima conferma l'aumento dell'OS in pazienti con l'allele T (OR: 1.62 95% CI: 1.16-2.25, I²: 44%).

OS per 2677G>T/A

Cinque degli studi inclusi analizzavano la OS per il polimorfismo 2677G>T/A, con un totale di 989 pazienti. I risultati mostrano un effetto di questo polimorfismo (allele T) sulla OS nel modello dominante (OR: 1.37, 95% CI: 1.01-1.86, I²: 33%), senza evidenziare in questo caso un'eterogeneità tra gli studi.

OS per 3435C>T

Sette studi analizzavano la OS per il polimorfismo 3435C>T, per un totale di 1221 pazienti. In questo set di studi l'OS è stata analizzata sia a 3 che a 4-5 anni. I risultati dell'analisi aggregata mostrano per i portatori dell'allele T (6 studi, 1021 pazienti) una sopravvivenza maggiore sia a 3 anni (OR: 1.41, 95% CI: 1.03-1.94, I²: 8%) che a 4-5 anni (6 studi, 1140 pazienti) (OR: 1.42, 95% CI: 1.05-1.91, I²: 17%).

L'analisi aggregata per i soli pazienti caucasici ha evidenziato nei portatori dell'allele T una maggiore OS (3 anni 3435C>T, OR: 1.41, 95% CI: 1.03-1.94, I²: 8%; 4 anni 1236C>T, OR: 1.62, 95% CI: 1.16-2.25, I²: 44%; 4-5 anni 2677G>T/A, OR: 1.39, 95% CI: 1.01-1.91, I²: 49%; 4-5 anni 3435C>T, OR: 1.41, 95% CI: 1.03-2.10, I²: 43%, rispettivamente).

Non è stata evidenziata nessuna correlazione tra i 3 polimorfismi considerati e la CR (2-4 studi).

I risultati di questa meta-analisi suggeriscono che i polimorfismi di ABCB1 hanno un effetto significativo sulla OS di pazienti AML trattati con chemioterapia standard, soprattutto nella popolazione caucasica, mentre non sembrano avere un impatto sulla CR. Tuttavia occorre evidenziare il numero esiguo di studi inclusi nella meta-analisi. Inoltre, la AML è una patologia complessa con eziologia multifattoriale ed il ruolo della P-gp in tale patologia non è del tutto chiarito. I risultati di questa meta-analisi si basano su stime non aggiustate per fattori clinici, limite che sarebbe superabile se fossero stati disponibili i dati individuali dei pazienti. Infine, in due studi inclusi nella meta-analisi la distribuzione dei genotipi non rispettava l'equilibrio di Hardy-Weinberg. I punti di forza dello studio sono l'approfondita strategia di analisi della letteratura, l'utilizzo di criteri stringenti di inclusione e la conduzione di numerose analisi di sensibilità per verificare la solidità dei risultati. Studi futuri focalizzati sull'interazione gene-gene e gene-ambiente potrebbero chiarire il ruolo dei polimorfismi nel gene ABCB1 in relazione all'efficacia della chemioterapia.

I pazienti con AML portatori dell'allele T dei polimorfismi di ABCB1 (1236C>T, 3435C>T, o 2677G>T/A) presentano una maggiore sopravvivenza dopo chemioterapia standard.

Parole chiave: leucemia mieloide acuta, ABCB1, glicoproteina-p, MDR1, chemioterapia standard

Riferimento bibliografico

Megías-Vericat JE et al. *Pharmacogenomics J* 2015, 15(2):109-118.



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori.

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.

sif.informazione@sigr.it; sif.farmacologia@sigr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010 - ISSN 2282-4758

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valentina Citi (Università di Pisa) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno)

Dott.ssa Sara De Iudicibus (Università di Trieste)
Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa)
Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania)
Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste)
Dott.ssa Valentina Manzo (Università di Salerno)
Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna)
Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF
<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. **IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI.** SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.
